

PAT-NO: JP406166635A  
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 06166635 A  
TITLE: IMMUNOADJUVANT  
PUBN-DATE: June 14, 1994

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

SHIGEMASA, YOSHIHIRO  
MATSUHASHI, AKIRA  
MINAMI, SABURO  
OKAMOTO, YOSHIHARU

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

SAN FIVE KK

COUNTRY

N/A

APPL-NO: JP04185968

APPL-DATE: June 18, 1992

INT-CL (IPC): A61K039/39

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain an immunoadjuvant for promoting immunizing effect of antigen infused into an organism, comprising a chitinous material as an active ingredient.

CONSTITUTION: An immunoadjuvant comprises a chitinous material selected from a chitin contained in crustacean such as pawn or crab, insect such as grasshopper and cuttlebone, chitin obtained by 20-80% deacetylating chitin and chitosan (especially chitin having  $\geq 80\%$  deacetylation degree) as an active ingredient. A water-insoluble chitin, a slightly water-soluble chitin and a water-soluble chitin may be cited as the chitin and the water-soluble

chitinous material and the slightly water-soluble chitinous material are finely granulated so as to be suspended in water in use and used. The immunoadjuvant exhibits sufficient effect in a dose of  $\leq 10\text{mg}$ .

COPYRIGHT: (C)1994, JPO&Japio

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-166635

(43)公開日 平成6年(1994)6月14日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

A 6 1 K 39/39

識別記号

庁内整理番号

9284-4C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数1(全 3 頁)

(21)出願番号 特願平4-185968

(22)出願日 平成4年(1992)6月18日

(71)出願人 591049675

サンファイブ株式会社

鳥取県鳥取市湖山町東5丁目133番地

(72)発明者 重政 好弘

鳥取県鳥取市美萩野1丁目48番地

(72)発明者 松橋 皓

鳥取市湖山町西1丁目357 鳥取大学白浜  
宿舎RA-12

(72)発明者 南 三郎

鳥取市湖山町北3丁目251 合同宿舎湖山  
住宅RCK3-401

(72)発明者 岡本 芳晴

鳥取市湖山町西1丁目357 鳥取大学白浜  
宿舎RB-6

(54)【発明の名称】 免疫アジュバント

(57)【要約】

【目的】 免疫アジュバントの提供を目的とする。

【構成】 キチン質を有効成分とする免疫アジュバント。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 キチン質を有効成分とする免疫アジュバント。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、免疫アジュバントに関するものである。詳しくは、本発明は、生体内に注入した抗原の、免疫効果を助成する免疫アジュバントに関するものである。

【0002】免疫とは、生体が自己又は非自己（抗原）を認識し、抗体を産生して非自己を処理排除するという生体に備わった機能である。ある病原微生物に対する免疫を付与する目的で病原性の低下した微生物、あるいは不活化した病原微生物成分（ワクチン）の接種が実施される。この様な場合、有効な免疫応答を、目的とする局所に惹起するために各種アジュバントが使用されている。

## 【0003】

【従来の技術】従来からキチンオリゴマー及びキトサンオリゴマーにアジュバント活性があることが知られている（特開昭62-61927号公報）。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、キチンオリゴマー、キトサンオリゴマーでは製造法に手間がかかり、しかも効果が低い（有効投与量：50-150mg）という欠点を有している。本発明は、キチン質にアジュバント効果のあることを発見し、本発明を完成した。

【0005】本発明は、製造に手間がかからず、しかも効果の高い、すなわち有効投与量の低いアジュバントの提供を目的とするものである。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、キチン質を有効成分とする免疫アジュバントをその骨子とするものである。

【0007】本発明に使用するキチン質としては、エビ、カニ等の甲かく類、バッタ、カブトムシ等の昆虫類、イカの甲等に含まれるキチン、キチンを20-80%脱アセチル化した脱アセチル化キチン、キトサン（特に脱アセチル化度80%以上のキチン）を挙げることができる。

【0008】本発明の免疫アジュバントに使用するキチン質としては、水に不溶性、難溶性あるいは可溶性のキチン質を挙げることができる。水に不溶性及び難溶性のキチン質としては、使用時、水に懸濁する程度に微粒化されたものが使用上推奨される。微粒化の方法としては、振動ボールミル、遊星ボールミル、遠心流動化ミルなどのミルを用い、キチン質を乾式粉碎する方法等を挙げることができる。さらに乾式粉碎方法に加えて、得られた微粒化キチン質を、水、生理食塩水等を用い、湿式粉碎する方法を採用することも又使用上推奨される。本発明の水に不溶性あるいは難溶性のキチン質の粒

度としては、注射針をスムーズに通過する程度の大きさを挙げることができる。水に可溶性のキチン質は、適当な濃度に調整したものを使用すれば良い。

【0009】本発明の免疫アジュバントの使用法は、ワクチンと混合した後注射する方法が挙げられる。また投与量は10mg以下で十分効果を発揮する。

## 【0010】

【作用】本発明の免疫アジュバントがワクチン接種に効果を発揮する理由は、今のところ明確には解明されていないが、以下のごとく考えられる。生体内には、マクロファージや多形核白血球に代表され、微生物などの異物が生体内に進入したときにその異物を認識し、異物へ移動し、異物を取り込み、そして酵素処理して排除するという作用を持つ細胞、所謂食細胞が存在するが、キチン質には、この食細胞を活性化させ、さらに活性化物質に向かって濃度勾配に逆らって遊走する化学走化性をも有している。キチン質をワクチンと共に注入することにより注入部位に食細胞を遊走するとともに食食作用を活性化させ、抗原認識を助長することによって抗体産生を活性化させるものと考えられる。またキトサンには蛋白吸着能があることが知られており、ワクチン内の弱毒化あるいは不活化ウイルスの吸着によって、より効率よく抗原提示細胞（マクロファージ）に補食され易くなるなどが総合してワクチン効果の加速化と抗体価の充分な上昇が得られるものと考えられる。

## 【0011】参考例1

カニのクチクラより製造したキトサン（フローナックC、脱アセチル化度83%（元素分析値より算出）、共和テクノス製造）を遠心流動化ミルを用い、乾式粉碎を行った。粉碎条件はジルコニア製ボール（10mmφ、10kg使用）を使用し、ミル回転数を420rpm、セパレーター回転数を3500rpmで粉碎を行った。得られた粉末をSKI-PR0-7000S（セイシン企業製造）によりエタノール中で測定した結果、最大粒径12μm、平均粒径3.1μmであった。

【0012】この粉末化キトサンを5%（w/w）の濃度で脱イオン水に分散し5リットルの処理液を作成した。このときの粒径を粒度分析計（日機装株式会社製造、マイクロトラックSPA形）により測定した結果、温度11℃において平均粒径10.2μm、最大粒径42.2μmであった。

【0013】得られたキトサン分散液を攪拌下にサンドグラインダーのベッセル内（容量2リットル）に送り込み、ジルコニア製ピン付羽根とジルコニア製ビーズ（0.5mmφ、1.7リットル）と処理液とを強力に対流させることにより粉碎を行った。処理液はベッセル内を7回通過させ、6ヶ月保存しても沈降することなく安定な分散性を示し、針径0.4mm、針長20mmの皮下用注射針をスムーズに通過する微粒子状キトサン分散液を調製した。

## 【0014】

【実施例】以下実施例を挙げて更に詳しく説明するが、

本発明はかかる実施例に限定されるものではない。

【0015】実施例1

参考例1で調整した微粒子状キトサン分散液をリンゲル液で50 $\mu$ g/mlに希釈し、本発明の免疫アジュバントを製造した。上記により製造した免疫アジュバント1mlとオランダ、デュファー社製造ジステンバーワクチン1mlとを約20分混和した後、2歳の雌雑種犬の皮下に投与し、赤血球凝集反応法によって投与前と投与2週間後の抗体価を測定した。その結果、接種前640であった抗体価が接種2週間後5120以上に上昇した。

【0016】実施例2

カニのクチクラより製造したキトサンに代えて、イカ甲より精製したキチンを使用した以外は参考例1と同様に

処理し、次いでリンゲル液でキチン粒子50 $\mu$ g/mlに希釈して本発明の免疫アジュバントを製造した。このアジュバント1mlとオランダ、デュファー社製造ジステンバーワクチン1mlとを約20分混和した後、3歳の雌ビーグル犬の皮下に投与し、赤血球凝集反応法によって投与前と投与2週間後の抗体価を測定した。その結果、接種前160であった抗体価が接種2週間後5120以上に上昇した。

【0017】比較例1

オランダ、デュファー社製造ジステンバーワクチン1mlを生後3ヶ月の雄ビーグル犬に接種し、赤血球凝集反応法によって投与前と投与2週間後の抗体価を測定した。その結果、接種前20であった抗体価が接種2週間後640であった。